



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความหลากหลายทางพันธุกรรมและ
โครงสร้างพันธุกรรมของประชากรสุกรพื้นเมืองไทยใน
บริเวณภาคใต้ที่ถูกตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง
และเครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel

โดย ดร. พิชญานิภา พงษ์พานิช และคณะ

กรกฎาคม 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้าง
พันธุกรรมของประชากรสุกรพื้นเมืองไทยในบริเวณภาคใต้ที่
ถูกตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้งและเครื่องหมายดีเอ็นเอ

InDel

ผู้วิจัย

ดร. พิชญานิภา พงษ์พานิช

ศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา

สังกัด

ภาควิชาสัตวศาสตร์

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย

สกว. และ สกอ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของ อาจารย์รุ่นใหม่ของสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย (Mentor) ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์และคอยให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดระยะเวลาการทำงานวิจัยขอขอบคุณ ดร.ธัญจิรา เทพรัตน์ และดร. กมล จีวีวรรณ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างงานวิจัยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ ผศ. เกศรา อ่ำพาภรณ์ สาขาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรวิทยาดูการ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างงานวิจัยสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คุณพีรญา ทิพย์เดช นักวิชาการฝ่ายสุกร ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สุราษฎร์ธานี ในการช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างงานวิจัยสุกร คุณธนภุต พรหมทอง และคุณณรงค์ลักษณ์ บัวจันทร์ นักวิชาการส่งเสริมการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างงานวิจัยและการสำรวจพื้นที่

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG60806143

ชื่อโครงการ: ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างพันธุกรรมของประชากร
พื้นเมืองไทยในบริเวณภาคใต้ที่ถูกตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ดตั้งและ
เครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel

ชื่อผู้วิจัย: ดร. พิชญานิภา พงษ์พานิช และ ศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา

ที่อยู่อีเมล: pitchayanipa.k@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 เมษายน 2560 ถึง 3 เมษายน 2562

การประเมินความผันแปรทางพันธุกรรมและโครงสร้างพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองภาคใต้มีความสำคัญมากต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมของสุกรท้องถิ่นและการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์สุกรพื้นเมืองไทยอย่างเหมาะสม การศึกษาครั้งนี้ทำการจำแนกสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองภาคใต้โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดตั้งบริเวณไมโทคอนเดรียบนยีน cytochrome oxidase I gene (COI) และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองภาคใต้ จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา ตรัง พัทลุง สงขลา ปัตตานี และสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือสกลนคร สุกรสายพันธุ์แท้ต่างประเทศและสุกรลูกผสม โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel จำนวน 14 ยีน จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI พบรูปแบบ haplotypes จำนวน 5 haplotypes ที่จำเพาะกับสุกรพื้นเมืองภาคใต้ ผลจากการสร้าง phylogenetic tree จากข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรมด้วยวิธี neighbor-joining พบว่าสุกรพื้นเมืองภาคใต้จาก 7 จังหวัดถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน การศึกษาด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel จำนวน 14 ยีน มีค่าเฉลี่ย percentage polymorphic loci ของประชากรสุกรทุกกลุ่มเท่ากับ 75.60 ± 4.93 % และมีค่าเฉลี่ย observed heterozygosities (H_o) และ expected heterozygosities (H_e) อยู่ในช่วง 0.205 ถึง 0.263 และ 0.239 ถึง 0.381 ตามลำดับ มีค่า fixation index ระหว่างประชากรสุกร อยู่ในช่วง -0.003 ถึง 0.265 การสร้างแผนภาพต้นไม้ด้วยวิธี neighbor-joining และจัดกลุ่มทางพันธุกรรมด้วยวิธี principal component analysis (PCA) เชื่อได้ว่าสุกรพื้นเมืองภาคใต้และสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ขณะที่สุกรพื้นเมืองภาคใต้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม การวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม STRUCTURE พบมีความแตกต่างระหว่างโครงสร้างประชากรสุกรพื้นเมืองไทยและสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ ซึ่งจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่ม ($K=2$)

คำหลัก: สุกรพื้นเมืองภาคใต้ ดีเอ็นเอบาร์โค้ด เครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel

Abstract

Project Code: MRG60806143

Project Title: Genetic variation and genetic structure of Southern Thai indigenous pig populations based on DNA sequences analyses of DNA barcoding marker and InDel DNA markers

Investigator: Pitchayanipa Phonphanich, Ph. D.

Professor Monchai Duangjinda, Ph. D.

E-mail Address: pitchayanipa.k@psu.ac.th

Project Period: 2 years (3rd April 2017 – 3rd April 2019)

The evaluation of genetic variation and genetic structure of Thai indigenous pig populations is very important for conservation genetic of local pig breeds and suitable for development breeding programs. In this study, DNA barcoding with the mitochondrial cytochrome oxidase I gene (*COI*) was used to identify southern Thai indigenous pig populations and the genetic diversity and genetic structure of Thai indigenous pig populations from Surat Thani, Nakhonsi Thammarat, Phang Nga, Trang, Phatthalung, Songkhla, Pattani and Sakon Nakhon, Exotic purebred pigs and Crossbred pigs were examined by using 14 functional insertion/deletion (InDels) markers. The analysis of *COI* gene sequence showed that specific 5 haplotypes in southern Thai indigenous pig populations. A phylogenetic tree was constructed from genetic distance determination according to neighbor-joining tree, revealed that southern Thai indigenous pig populations from seven provinces were clustered together. At the 14 InDels loci, with an average of percentage polymorphic loci for all pig populations were 75.60 ± 4.93 %, and the average observed heterozygosities (H_o) and expected heterozygosities (H_e) ranged from 0.205 to 0.263 and 0.239 to 0.381, respectively. The Fixation index ranged from -0.003-0.265 among populations. A neighbor-joining (NJ) tree, principal component analysis (PCA) revealed that Southern Thai indigenous pig and Northeast Thai indigenous pigs were genetically close, while Thai indigenous pigs were distant from the exotic purebred pig and crossbred pigs. STRUCTURE analysis clearly showed the genetic differentiation of Southern Thai indigenous, Northeast Thai indigenous pigs, exotic purebred pig and crossbred pigs was assigned into two cluster ($K=2$).

Keywords: Thai indigenous pig, DNA barcode , InDels marker

Executive summary

สุกรพื้นเมืองภาคใต้พบการเลี้ยงส่วนใหญ่ในแถบภาคใต้ตอนบนในจังหวัด สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และภูเก็ต และในแถบภาคใต้ตอนล่างพบใน ในจังหวัด ตรัง พัทลุง สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส เป็นต้น เนื่องจากมีข้อด้อยทางด้านการเจริญเติบโต คุณภาพซากและระบบสืบพันธุ์ ตลอดจนความต้องการของผู้บริโภคลดลง ทำให้มีปริมาณการเลี้ยงสุกรในเขตภาคใต้น้อยกว่าเขตพื้นที่อื่นๆ การศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรสุกรพื้นเมืองจะทำให้เข้าใจในพื้นฐานโครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรสุกรพื้นเมืองมากขึ้น สามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพในการคัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองให้เหมาะสมกับความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภคได้ ดังนั้นโครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสุกรพื้นเมืองภาคใต้เปรียบเทียบกับสุกรพันธุ์ต่างๆโดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้งและเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทยเปรียบเทียบกับสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดูรีด แลนด์เรซ ลาร์จไวท์) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ InDels

ทำสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสุกร โดยประกอบด้วยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 30 ตัว สุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดูรีด 20 ตัว แลนด์เรซ 31 ตัว ลาร์จไวท์ 32 ตัว) และสุกรลูกผสม จำนวน 30 ตัว สุ่มเก็บเลือดสุกรพื้นเมืองภาคใต้จากสุกรที่เลี้ยงบริเวณพื้นที่ภาคใต้ตอนบนในจังหวัด สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ และบริเวณภาคใต้ตอนล่างในจังหวัด ตรัง สงขลา และปัตตานี จำนวน 117 ตัว นำมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของระหว่างสุกรพื้นเมืองภาคใต้เปรียบเทียบกับสุกรพันธุ์ต่างๆโดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง นำไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วนของยีน COI และส่ง PCR products เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 70 ตัวอย่าง และนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับสุกรพันธุ์อื่นๆ และจัดกลุ่มทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA 7 พบตำแหน่ง SNPs จำนวน 10 ตำแหน่งมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์แบบ Transition นำมาจัดรูปแบบ haplotypes ได้จำนวน 5 haplotypes ซึ่งมีความจำเพาะในสุกรพื้นเมืองภาคใต้ ซึ่งอาจนำไปใช้ในการพัฒนาและอนุรักษ์สุกรพื้นเมืองไทยได้ ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย Phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่าสุกรพื้นเมืองในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัด สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา กระบี่ ตรัง สงขลา และปัตตานี มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงและจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel จำนวน 14 ยีน (*POU1F1*, *FSHB*, *MUC13*, *DGAT2*, *KIT*, *FGFR2*, *VRTN*, *OCT4*, *MMP2*, *SPEF2*, *GPX-5*, *UCP2*, *INHA* และ *MX1*) สามารถสรุปได้ว่า สุกรทุกกลุ่มมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกตอยู่ในช่วง 0.107-0.438 ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวังอยู่ในช่วง 0.063-0.333 มีค่า Percentage Polymorphic loci เฉลี่ย 75.60 ± 4.93 % และค่า Fixation

index พบว่ามีค่าค่อนข้างต่ำ อยู่ในช่วง $-0.003-0.265$ จากการวิเคราะห์โครงสร้างของประชากรด้วยการจัดกลุ่มพันธุกรรมโดยโปรแกรม STRUCTURE วิธี PCA plot และสร้าง Phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่ากลุ่มสุกรพื้นเมืองในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งอาจมีต้นกำเนิดมาจากที่เดียวกัน โดยสุกรพื้นเมืองภาคใต้มีความใกล้ชิดกับสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างชัดเจนกับสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศและสุกรลูกผสม อย่างไรก็ตาม การทราบข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองภาคใต้จะช่วยให้วางแผนพัฒนาปรับปรุงพันธุ์และอนุรักษ์สุกรพื้นเมืองภาคใต้ การตั้งเป้าหมายในการปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างเหมาะสม โดยอาจวางแผนการผสมพันธุ์โดยใช้สุกรพื้นเมืองภาคใต้เป็นสายแม่และผสมข้ามพันธุ์กับสุกรสายพันธุ์ยุโรป

สารบัญ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Executive summary	ง
1. บทนำ	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและ จำแนกสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองภาคใต้โดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง	3
3.2 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างพันธุกรรม และการจัดกลุ่ม ทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทยเปรียบเทียบกับสุกรพันธุ์แท้ทางการค้า (ดুর็อค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) และสุกรลูกผสม โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ InDel	4
4. ผลและวิจารณ์การศึกษา	
4.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกสาย พันธุ์สุกรพื้นภาคใต้ของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง	8
4.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของสุกรพื้นเมืองไทยและ สุกรสายพันธุ์แท้ต่างประเทศและสุกรลูกผสม	12
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	24

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
Table 1 Pig breeds and NCBI GenBank accession numbers	1
Table 2 Locations and number of southern Thai indigenous pig used in this study	5
Table 3 List of 14 functional InDels marker used in this study	7
Table 4 Haplotypes of mtDNA COI region observed in Thai indigenous pig and other pig breeds	9
Table 5 Sample size and allele frequencies for 14 insertion-deletion polymorphisms (indels) of each population	13
Table 6 Observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), variance of allele frequencies within accessions (F_{is}), inbreeding coefficient within an individual total diversity (F_{it}), variance of allele frequencies among accessions (F_{st}) by locus, averaged among all the breeds	14
Table 7 Expected Heterozygosity (H_e), observed heterozygosity (H_o) and Wright's fixation indices (F) in all population	15

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
Figure 1 The coat color patterns of Southern Thai indigenous pig. (a) black spotting pig and black with white color on the feet and belly pig (b) all-black pig	6
Figure 2 Phylogenetic tree of the COI region of porcine mtDNA sequence constructed by Neighbor-Joining (NJ) method using MEGA 7 software. Five haplotypes observed in Thai indigenous pig are indicated by circle. Also, European pig breeds and Asian pig breeds sequences were used for construction of the phylogenetic tree	11
Figure 3 Clustering analysis by structure for the full loci data set assuming K =2-5	17
Figure 4 The Bootstrap neighbor-joining tree based on Nei's genetic distance	18
Figure 5 Principal component analysis results	19

1.บทนำ

สุกรพื้นเมืองไทยจัดเป็นสุกรที่มีไขมันสูง มีการเจริญเติบโตช้า ให้เนื้อแดงน้อยและให้จำนวนลูกต่อครอกต่ำ (Nakai, 2008) แต่อย่างไรก็ตาม สุกรพื้นเมืองมีข้อดีอื่นๆหลายประการ เช่น สามารถปรับตัวกับสิ่งแวดล้อมได้ดี ใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีคุณภาพต่ำได้ดีและยังทนทานต่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งทนต่อพยาธิ สุกรพื้นเมืองในประเทศมีอยู่ด้วยกันหลายสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ราดหรือกระโดน พวง ควายและไหล่ เป็นต้น

การเลี้ยงสุกรพื้นเมืองส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงเป็นอาชีพเสริม โดยจะเลี้ยงไว้หลังบ้านหรือเลี้ยงแบบปล่อยอิสระ ซึ่งมีต้นทุนในการเลี้ยงต่ำเมื่อเทียบกับการเลี้ยงสุกรแบบการค้า ในปัจจุบันพบว่าการเลี้ยงสุกรพื้นเมืองในบางพื้นที่ค่อยๆลดต่ำลง เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคมีน้อย การหันมาเลี้ยงสุกรพันธุ์ต่างประเทศมากขึ้น และใช้เวลานานกว่าจะได้รับผลตอบแทน ซึ่งมีโอกาสที่สุกรพื้นเมืองพันธุ์แท้ที่เลี้ยงในภาคอื่นๆจะลดลงและสูญหายไป จากการสำรวจในปี 2559 พบว่า มีประชากรสุกรพื้นเมืองในประเทศไทยอยู่ 530,901 ตัว ส่วนใหญ่มีการเลี้ยงในบริเวณทางภาคเหนือ รองลงมาเป็นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ตามลำดับ และภาคใต้มีการเลี้ยงสุกรพื้นเมืองน้อยที่สุด สุกรพื้นเมืองภาคใต้ พบว่าส่วนใหญ่เป็นสุกรพันธุ์ไหล่ พันธุ์พวง และพันธุ์ราด มักเรียกกันว่า หมูขี้พรา จากการสำรวจการกระจายตัวของสุกรพื้นเมืองภาคใต้ พบการเลี้ยงส่วนใหญ่ในแถบภาคใต้ตอนบนในจังหวัด สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และภูเก็ต และแถบภาคใต้ตอนล่าง ในจังหวัด ตรัง สงขลา ปัตตานี เป็นต้น ซึ่งคาดว่าจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

ที่ผ่านมาการศึกษาพื้นฐานโครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรสุกรพันธุ์พื้นเมืองไทย มีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง (Chaiwatanasin et al., 2002; Charoensook et al., 2009 Chaweewan et al., 2014) อย่างไรก็ตาม ความเข้าใจในพื้นฐานความแปรปรวนทางพันธุกรรมของประชากรสุกรพื้นเมืองภาคใต้มีอยู่อย่างจำกัด การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะให้เข้าใจในพื้นฐานโครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรสุกรพันธุ์พื้นเมืองมากยิ่งขึ้น ซึ่งหากประชากรสุกรพื้นเมืองภาคใต้ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงสามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรม และนำไปใช้ในการคัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองให้เหมาะสมกับความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภคได้

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของสิ่งมีชีวิตมักจะนิยมใช้เครื่องดีเอ็นเอในส่วนของ Microsatellites และ SNPs การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Microsatellites ในการตรวจสอบโดยพิจารณาจากภาพถ่ายเจลนั้น มักพบปัญหาความไม่ชัดเจนของแบนด์ดีเอ็นเอ และมีความยุ่งยากในวิเคราะห์รูปแบบอัลลีล ขณะที่การใช้ข้อมูล SNPs จำเป็นต้องใช้จำนวนข้อมูลค่อนข้างมาก และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอใหม่ๆที่มีความแม่นยำ ค่าใช้จ่ายต่ำกว่า และมีความรวดเร็วเข้ามาใช้ เช่น DNA barcoding และ Insertion-deletion polymorphisms (indels)

DNA barcoding เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีขนาดสั้นๆที่สามารถใช้บอกความหลากหลายทางพันธุกรรม ศึกษาด้านวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต และจำแนกความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้ทั้งในระดับสปีชีส์และสายพันธุ์ โดยตำแหน่งดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมาย มักอยู่บริเวณไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ เช่น ยีน Cytochrome oxidase subunit I (COI) (Hebert et al. 2003), Cytochrome b gene (cyt b), D-loop region, 12SrRNA และ 16SrRNA (Ferri et al., 2009) อย่างไรก็ตาม ยีน Cytochrome oxidase subunit I (COI) เป็นยีนที่ได้รับความนิยมค่อนข้างสูงในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม เนื่องจากมีความผันแปรสูงและมีอัตราการคืนสภาพสูงกว่าดีเอ็นเอบริเวณอื่นๆ (Hajibabaei et al., 2006; Hebert et al. 2003; Orville et al., 2013)

ส่วน Insertion-deletion markers (InDels) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่อาศัยข้อมูลการเกิดการกลายพันธุ์แบบ insertion/deletion การเกิด insertion/deletion มีช่วงเบส ตั้งแต่ 1 bp จนถึง 10,000 bp สั้นๆ ทั่วทั้งจีโนม นอกจากนี้รูปแบบอัลลีลที่พบเป็นแบบ diallelic markers สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ข้อดีของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ indels สามารถวิเคราะห์รูปแบบอัลลีลได้ง่าย ทำให้การตรวจสอบมีความแม่นยำสูง อีกทั้งมีการกระจายอยู่ทั่วทั้งจีโนม (Väli et al., 2008; Mills et al., 2011; Maw et al., 2015) โดยมีรายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในประเทศพม่า ไทยและลาวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Indels ซึ่งพบความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง (Maw et al., 2015) เช่นเดียวกับ Maw et al. (2012) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในประเทศพม่าและอินโดนีเซีย เป็นต้น

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองภาคใต้ เปรียบเทียบกับสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดুর็อค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) และสุกรลูกผสมโดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง

2.2 เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างพันธุกรรม และจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทยเปรียบเทียบกับสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดুর็อค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) และสุกรลูกผสม โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel

3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษานี้ได้ดำเนินการวิจัยที่ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จำนวนสัตว์ทดลอง กระบวนการจับสัตว์และการเจาะเลือดสัตว์ได้ผ่านพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ (คกส.) ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(Ref.21/2019) ซึ่งอยู่ภายใต้สถาบันพัฒนาการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สพสว.) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

3.1 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจำแนกสายพันธุ์สุกรโดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด

3.1.1 ตัวอย่างและการสกัดดีเอ็นเอ

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสุกรพื้นเมืองภาคใต้ จากสุกรที่เลี้ยงบริเวณพื้นที่ภาคใต้ตอนบนในจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ และบริเวณภาคใต้ตอนล่างในจังหวัดตรัง สงขลา และปัตตานี โดยในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจะหลีกเลี่ยงการเก็บตัวอย่างสุกรที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดสุกรจากเส้นเลือดดำบริเวณลำคอ ปริมาตร 10 ml นำเลือดที่ได้ใส่ในหลอดเก็บเลือด ขนาด 15 ml ที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) 0.5 mM ปริมาตร 1000 μ l และเก็บตัวอย่างเลือดสุกรในถังบรรจุน้ำแข็ง หลังจากนั้น นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และนำไปสกัดดีเอ็นเอ โดยสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ E.Z.N.A.® Blood DNA Mini จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วย Agarose gel electrophoresis และเจือจางความเข้มข้นดีเอ็นเอ

3.1.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด

นำจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้ ไปทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน Cytochrome C Oxidase subunit I (COI) โดยทำการออกแบบไพรเมอร์ COI จากฐานข้อมูลดีเอ็นเอสุกรจาก GenBank (accession number: AF034253.1) โดยใช้โปรแกรม Primer Blast program บนเว็บไซต์ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> ไพรเมอร์ COI ประกอบด้วย F:5'-GGGCTCACCACATATTCACC-3' และ R:5' GGAGGAGGACATCCGTGTAG-3' ขนาด 533 bp กระบวนการ PCR แต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอ เริ่มต้น 10 ng, Primer สายละ 5 pmol, 10X Taq buffer ปริมาตร 10 μ l, 25 mM MgCl₂ ปริมาตร 4 μ l, 1mM dNTPs ปริมาตร 5 μ l เอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.5 unit และเติมน้ำ (Sterile water) ให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 50 μ l ผสมเข้าด้วยกันแล้วนำไปใส่เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Polymerase Chain Reaction Machine (PCR Machine) มีกระบวนการดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที อุณหภูมิ Annealing 62°C เป็นเวลา 30 วินาที Extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 35 รอบ จากนั้นต่อด้วย Final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบการปรากฏของดีเอ็นเอและขนาดของดีเอ็นเอด้วย 2% Agarose gel electrophoresis และย้อมด้วยสีย้อม Gel star

3.1.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ PCR product ที่ได้ส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย ซึ่ง PCR product ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ (purification) ด้วยวิธี Gel extraction จากนั้นนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส โดยใช้เครื่อง Applied

Biosystems 3730XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) และ ใช้ BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit

3.1.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ของตัวอย่างสุกรพื้นเมืองไทยและลำดับข้อมูลดีเอ็นเอของสุกรสายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูล GenBank (Table 1) ทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (Alignment) ด้วยโปรแกรม CLUSTAL MUSCLE (Edgar, 2004) จากนั้นทำการสร้าง Phylogenetic tree ด้วยวิธี Neighbor-joining โดยใช้โปรแกรม MEGA7 (Kumar et al., 2016)

Table 1 Pig breeds and NCBI GenBank accession numbers

Breeds	Accession number	Reference
WB-Vietnam	EF545572.1	Unpublished
WB-Hainan	EF545572.1	Wu et al. (2016)
Dahe	GQ220329.1	Unpublished
Mong Cai	KU556691.1	Nhien et al. (2016)
Meishan	KM998967.1	Ran et al. (2014)
Landrace	AF034253.1	Lin (1997)
Bershire	AY574045.1	Cho (2004)
Large white	AF486874.1	Yang et al. (2002)
	KC250275.1	Zhao and Yu (2012)
Duroc	AY337045.1	Cho (2013)
	AF486858.1	Yang et al. (2002)
Hampshire	AY574046.1	Unpublished
Pietrain	KC469587.1	Yu et al. (2013)
Iberian	FJ236994.1	Unpublished

3.2 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างพันธุกรรม และการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทยเปรียบเทียบกับสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดুর็อค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) และสุกรลูกผสม โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel

3.2.1 ตัวอย่างและการสกัดดีเอ็นเอ

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสุกร ประกอบด้วยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้า (ดুর็อค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) และสุกรลูกผสม จำนวน 259 ตัว โดยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากสุกรที่เลี้ยงบริเวณพื้นที่

ภาคใต้ตอนบนในจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ และบริเวณภาคใต้ตอนล่างในจังหวัด ตรัง สงขลา และปัตตานี (Table 2) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสุกรพื้นเมืองภาคใต้ (Figure 1) สุ่มเก็บตัวอย่างสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากจังหวัด สกลนคร จำนวน 30 ตัวอย่างสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศ (ดুর็อค 20 ตัว แลนด์เรซ 31 ตัว ลาร์จไวท์ 32 ตัว) และสุกรลูกผสม (ดুর็อค 62.5% และเบียร์ตรง 37.5% (CB)) จำนวน 30 ตัว

Table 2 Locations and number of southern Thai indigenous pig used in this study

ลำดับ	ตำแหน่งที่ตั้ง	จำนวน (ตัว)
1	อ. คีรีรัฐนิคม จ. สุราษฎร์ธานี	6
2	อ. พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี	2
3	อ. วิภาวดี จ. สุราษฎร์ธานี	5
4	อ. บ้านตาขุน จ. สุราษฎร์ธานี	6
5	อ.ทุ่งสง จ. นครศรีธรรมราช	14
6	อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช	5
7	อ. ลานสกา จ. นครศรีธรรมราช	1
8	อ. จุฬาภรณ์ จ. นครศรีธรรมราช	6
9	อ. พรหมคีรี จ. นครศรีธรรมราช	1
10	อ. เขียวใหญ่ จ. นครศรีธรรมราช	2
11	อ. หัวไทร จ. นครศรีธรรมราช	5
12	อ. พิปูน จ. นครศรีธรรมราช	7
13	อ. ท้ายเหมือง จ. พังงา	9
14	อ. ตะกั่วป่า จ. พังงา	6
15	อ. เขาพนม จ. กระบี่	5
16	อ. เหนือคลอง จ. กระบี่	3
17	อ. ลำทับ จ. กระบี่	1
18	อ. ห้วยยอด จ. ตรัง	12
19	อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา	17
20	อ. สทิงพระ จ. สงขลา	2
21	อ. โคกโพธิ์ จ. ปัตตานี	2
รวม		117

โดยในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจะหลีกเลี่ยงการเก็บตัวอย่างสุกรที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดสุกรจากเส้นเลือดดำบริเวณลำคอ ปริมาตร 10 ml นำเลือดที่ได้ใส่ในหลอดเก็บเลือด ขนาด 15 ml ที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) 0.5 mM ปริมาตร 1000 μ l นำไปสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ชุด E.Z.N.A.® Blood DNA Mini จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วย Agarose gel electrophoresis และเจือจางความเข้มข้นดีเอ็นเอ



Figure 1 The coat color patterns of Southern Thai indigenous pig. (a) black spotting pig and black with white color on the feet and belly pig and (b) all-black pig

3.2.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) และตรวจสอบรูปแบบยีนด้วย Agarose gel electrophoresis

จีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่สกัดได้ นำไปเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel จำนวน 14 ยีน ด้วยวิธี PCR (Table 3) แต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย ดีเอ็นเอตั้งต้น 10 ng, ไพรมเมอร์ forward และ ไพรมเมอร์ reverse ที่มีความเข้มข้นไพรมเมอร์ละ 5 pmol, 10X Taq buffer ปริมาตร 1 μ l, 25 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 0.8 μ l, 10mM dNTPs ปริมาตร 1 μ l และเอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.5 unit เติมน้ำให้ปริมาตรครบ 10 μ l ผสมเข้าด้วยกัน นำเข้าเครื่อง PCR โดยกำหนดให้แต่ละปฏิกิริยา เริ่มด้วยการทำ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที อุณหภูมิ annealing 60-62°C เป็นเวลา 30 วินาที Extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 35 รอบ จากนั้นต่อกับ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบการปรากฏของดีเอ็นเอและขนาดของดีเอ็นเอด้วย 3% Agarose gel electrophoresis และย้อมด้วยสีย้อม Gel star เพื่อบันทึกการปรากฏของขนาดดีเอ็นเอ

3.2.3 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

รูปแบบอัลลีลในสุกรพันธุ์ต่างๆที่ได้จากตรวจสอบด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ InDels จำนวน 14 โลไโซ ถูกนำมาวิเคราะห์ค่าความถี่ของอัลลีล ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) ค่า Percentage Polymorphic loci ค่า Fixation index (F) ค่า inbreeding coefficient (F_{IS}) และ ค่า degree of genetic differentiation among populations (F_{ST}) ด้วยโปรแกรม GenAlEx 6.51 (Peakall and Smouse, 2012)

Table 3 List of 14 functional InDels marker used in this study

Gene ¹	SSC	Primer sequence (5' to 3')	Size (bp) ^a	Reference
<i>FSHB</i>	2	F:CCTTTAAGACATCAATGGCA R:AGTGGTTTTTCCTTCCTTTTC	460 or 168 bp	Ren et al. (2013)
<i>DGAT2</i>	4	F: AGTGTGGATGTGGAGAAGGG R:ACAAATACACGAGCCTGAGG	133 or 120 bp	Zang et al. (2016)
<i>Oct4</i>	6	F:CTTCCACTTGGCTACTTCTTT R:GCTGTGGCATAGGTTTGAT	344 or 322 bp	Ren et al. (2017)
<i>MMP2</i>	6	F:TTGACGACGATGAGCTGTG R:TCGAAGTTGTAGGTGGTGGG	415 or 392 bp	Huang et al. (2009)
<i>GPX-5</i>	7	F:TAGACACGTCACCTCACCTCC R:GGGAGTAAGCATTCTCTGTG	630 or 110 bp	Mackowski et al. (2014)
<i>VRNT</i>	7	F:GGCAGGGAAGGTGTTTGTTA R:GACTGGCCTCTGTCCCTTG	411 or 120 bp	Polasik et al. (2018)
<i>KIT</i>	8	F:GTAAGGCCAGATGTTCTTCCT R:CAACCGGACCTACTGAAATGAC	538 or 524 bp	Klomlong et al. (2015)
<i>UCP2</i>	9	F:CAGAGGGGATGGGACGTGTC R:CTCTGAAGCAAGCCCCCTCC	266 or 250 bp	Yanhua et al. (2007)
<i>POU1F1</i>	13	F:CATTCCCATTCTGCCATT TG R:CCTGTTGCTGTGTTTCCCAG	1091 or 778 bp	Song et al. (2007)
<i>MUC13</i>	13	F:TTCTACTCTGATTCCACATCACG R:TGGTCATGTCTAGGACTCTTTGAG	151 or 83 bp	Ren et al. (2013)
<i>Mx1</i>	13	F:AAGCGCATCTCCAGCCACATC R:TGACCCTTCTATGATGCTATG	611 or 600 bp	Sumantri et al. (2001)
<i>FGFR2</i>	14	F:GATTTAGCCGCCAGAAATGTT R:GTACACGCGATCAAAAAGGG	1000 or 750 bp	Aldenhoven et al. (2007)
<i>INHA</i>	15	F:CCCGTGTCTCACGGATACCACT R:GTGCTGGGACGGCCGGAATAC	663 or 380 bp	Li et al. (2016)
<i>SPEF2</i>	16	F:GGCAATATCAAGGTCTTTCCA R1:GGCAATATCAAGGTCTTTCCA R2:GCAGGAGAGGAGAATGACCA	421 or 354 bp	Chen et al. (2007)

¹ *POU1F1*= POU Class 1 Homeobox 1; *DGAT2*= Diacylglycerol O-Acyltransferase 2; *FGFR2*= Fibroblast growth factor receptor 2; *VRNT*= Vertnin; *UCP2*= Uncoupling Protein 2; *FSHB*= Follitropin subunit beta; *SPFE2*= sperm flagella 2; *OCT4*= Octamer-binding transcription factor-4; *GPX-5*= Glutathione peroxidase 5; *INHA*= Inhibin Subunit Alpha; *MUC13*= Mucin 13; *Mx1*= MX Dynamin Like GTPase 1; *MMP2*= Matrix Metalloproteinase 2; *KIT*= V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog

3.2.4 การวิเคราะห์โครงสร้างประชากรและการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม

ข้อมูลรูปแบบจีโนไทป์ที่พบทั้งหมด นำมาวิเคราะห์ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance, Da) (Nei et al., 1983) ระหว่างประชากรสุกรทั้ง 12 กลุ่ม จากนั้นนำค่า Da ระหว่างประชากรมาจัดกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ Neighbor-joining แล้วสร้าง Neighbor-joining tree เพื่อแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรโดยใช้โปรแกรม POPTREE2 และการวิเคราะห์บูตสตรัป (bootstrap analysis) (จำนวนซ้ำ: 1000) (Takezaki et al. 2009)

วิเคราะห์ Principal Coordinate Analysis (PCoA) ของประชากรสุกรทั้ง 12 กลุ่ม โดยนำข้อมูลอัลลีลที่พบทั้งหมด มาคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance, Da) แล้วนำค่า Eigenvalue ของแกน PC1 และ PC2 ของแต่ละกลุ่มประชากรมาสร้างกราฟการกระจาย (Scattered plot) ด้วยโปรแกรม GenAlEx 6.51 (Peakall and Smouse, 2012) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์จีโนไทป์ของแต่ละประชากร ที่ถูกตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel จำนวน 14 โลไซ นำมาวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษาโครงสร้างของประชากรสุกร ด้วยโปรแกรม STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard et al., 2000) โดยกำหนดเงื่อนไขในการวิเคราะห์ข้อมูล (parameters set) ดังนี้ กำหนดค่าจำนวนประชากร (K) ตั้งแต่ 1–10 แต่ละประชากร K โปรแกรมจะวิเคราะห์ซ้ำจำนวน 2 ครั้ง กำหนดค่าเริ่มต้น burn-in 10,000 รอบตามด้วย 100,000 iterations ใช้โมเดลแบบ admixture และความสัมพันธ์ของความถี่อัลลีลระหว่างประชากร (correlated allele frequencies between populations) ซึ่งผลลัพธ์ที่คาดหวังว่าจำนวนประชากรที่น่าจะเป็นจริงตามทฤษฎีแสดงในรูป Bar plot จากนั้นนำผลที่ได้จากโปรแกรม STRUCTURE 2.3.1 ไปวิเคราะห์ต่อด้วยโปรแกรม Structure Harvester (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>) เพื่อวิเคราะห์จำนวนกลุ่มทางพันธุกรรมของประชากร โดยพิจารณาจากค่า DeltaK สูงสุด

4. ผลและวิจารณ์การศึกษา

4.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกสุกรพื้นเมืองภาคใต้โดยใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนไมโทคอนเดรีย COI ในช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ตั้งแต่ +1056 ถึง +1582 bp ในสุกรพื้นเมืองภาคใต้จำนวน 70 ตัวอย่าง นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรมกับสุกรสายพันธุ์ยุโรป สุกรสายพันธุ์เอเชียโดยอาศัยข้อมูลอ้างอิงจาก GenBank (Table4) ด้วยโปรแกรม CLUSTAL MUSCLE

เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบในสุกรพื้นเมืองภาคใต้เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank accession number AF034253.1 พบตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่มีความแตกต่างกันในสุกรพื้นเมืองภาคใต้จำนวน 10 ตำแหน่ง ซึ่งเกิดการกลายพันธุ์แบบ Transition อย่างไรก็ดีตามลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง +c1571 และ+c1581 พบได้เฉพาะสุกรพื้นเมืองภาคใต้ และเมื่อพิจารณาในรูปของ Haplotype มีจำนวน 9 Haplotype ในสุกรสายพันธุ์

ยุโรป พบว่ามีจำนวน 2 Haplotypes ประกอบด้วยรูปแบบ Haplotype E1 และ E2 สุนัขสายพันธุ์เอเชียมีจำนวน 2 Haplotypes เช่นเดียวกัน คือ A1 และ A2 ขณะที่สุนัขพื้นเมืองภาคใต้พบจำนวน 5 Haplotypes (Table 4) ดังนั้น จากผลการทดลองสามารถนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนไมโทคอนเดรีย COI หรือดีเอ็นเอบาร์โค้ดดังกล่าวมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสุนัขพื้นเมืองภาคใต้ สุนัขสายพันธุ์ยุโรปและสุนัขสายพันธุ์เอเชียได้

Table 4 Haplotypes of mtDNA COI region observed in Thai indigenous pig and other pig breeds

Breeds/Haplotypes	H	Nucleotide position										
		1080	1161	1248	1254	1297	1421	1536	1546	1571	1572	1581
European pig breeds												
Duroc	E1	T	C	C	C	C	G	C	G	C	T	G
Hampshire	E2	T	C	C	C	C	A	C	G	C	T	G
Landrace	E2	T	C	C	C	C	A	C	G	C	T	G
Pietrain	E2	T	C	C	C	C	A	C	G	C	T	G
Large White	E2	T	C	C	C	C	A	C	G	C	T	G
Iberian	E2	T	C	C	C	C	A	C	G	C	T	G
Asian pig breeds												
WB-Vietnam	A1	C	T	T	C	C	A	C	G	C	T	G
WB-Hainan	A1	C	T	T	C	C	A	C	G	C	T	G
Mong cai	A1	C	T	T	C	C	A	C	G	C	T	G
Meishan	A1	C	T	T	C	C	A	C	G	C	T	G
Dahe	A1	C	T	T	C	C	A	C	G	C	T	G
Berkshire	A2	C	T	T	C	C	A	A	G	C	T	G
Thai indigenous pig												
TP1 (n=3)	TP1	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	A
TP2 (n=9)	TP2	C	T	T	T	C	A	C	A	T	T	A
TP3 (n=5)	TP3	C	T	T	T	C	A	C	G	T	C	A
TP4 (n=12)	TP4	C	T	T	C	T	A	C	G	T	T	A
TP5 (n=51)	TP5	C	T	T	C	C	A	C	G	T	C	A

อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุนัขพื้นเมืองไทย โดยใช้ข้อมูลความผันแปรของยีน Cytochrome b อภิชาติและบุญจวน 2558 ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุนัขพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาจากยีนไมโทคอนเดรีย cytochrome b ทำการสำรวจและเก็บข้อมูลของสุนัขพื้นเมือง จำนวน 21 ตัว ในจังหวัดสงขลาพื้นที่ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง จะนะ คลองหอยโข่ง รัตภูมิและกระแสสินธุ์ จากข้อมูลความผันแปรของยีน cytochrome b สามารถจัดกลุ่มสุนัขพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา ออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ไม่ชัดเจนนัก

นิชนันท์และคณะ (2551) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมือง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 19 ตัวอย่าง จากจังหวัด สกลนคร ศรีสะเกษ นครพนม มุกดาหาร และสุรินทร์ จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Cytochrome b มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ 43 ตำแหน่ง และมีรูปแบบ Haplotype ที่พบสุกรพื้นเมือง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 9 Haplotype แต่ไม่สามารถจำแนกพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองได้แต่อย่างใดก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษา ยีน COI ในประชาสุกรพื้นเมืองไทย

ยีนไมโทคอนเดรีย COI หรือที่เรียกกันโดยทั่วไปว่า "ดีเอ็นเอบาร์โค้ด" ยีน COI เป็นยีนที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอบาร์โค้ดดีเอ็นเอสายสั้น ๆ เป็นบริเวณที่เป็นลำดับอนุรักษ์ มีความผันแปรระหว่างสิ่งมีชีวิตทั้งในระดับสปีชีส์และสายพันธุ์ มีการนำมาใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เพื่อใช้บ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอบาร์โค้ดดีเอ็นเอที่ยีนนิยมใช้ส่วนใหญ่ นอกจาก COI แล้ว ยังมีดีเอ็นเอที่อยู่บนไมโทคอนเดรียในบริเวณอื่นๆ เช่น 16SrRNA 12SrRNA Cyto B และ D-loop เป็นต้น (Hebert et al. 2003; Alves et al., 2009) อย่างไรก็ตาม Orville (2013) ศึกษาความผันแปรของดีเอ็นเอบาร์โค้ดดีเอ็นเอในสัตว์เศรษฐกิจและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในกลุ่ม Class Mammalia ในประเทศฟิลิปปินส์ โดยดีเอ็นเอบาร์โค้ดดีเอ็นเอ COI สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ของสัตว์แล้วยังสามารถจำแนกความแตกต่างรายตัวระหว่างสัตว์ภายในครอบครัวเดียวกันได้นอกจากนี้ Orville et al. (2013) ได้ศึกษาจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสุกรพันธุ์แท้และสุกรลูกผสมด้วยดีเอ็นเอบาร์โค้ดดีเอ็นเอ COI สามารถใช้จำแนกความแตกต่างของสุกรพันธุ์แท้ที่เลี้ยงในประเทศฟิลิปปินส์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลสุกรพันธุ์แท้จากฐานข้อมูล GenBank ได้ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทยและสุกรสายพันธุ์อื่นๆ ด้วยการสร้าง phylogenetic tree วิธี neighbor-joining (Figure 2)

จากข้อมูล Dendrogram สามารถแบ่งกลุ่มสุกรออกเป็น 2 กลุ่มอย่างชัดเจน คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย สุกรสายพันธุ์ยุโรป (Hamshire Landrace Pietran Large white Iberian และ Duroc) และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สุกรปาเอเชีย (WB-Hainan และ WB-Vietnam) สุกรพื้นเมืองเอเชีย (Mong Cai Dahe และ Meishan) สุกรพันธุ์เบอร์กเชียร์ (Berkshire) และสุกรพื้นเมืองภาคใต้ (TP1-TP5) โดยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ทำการสุ่มตัวอย่างสุกรจากพื้นที่บริเวณภาคใต้ของประเทศไทยในจังหวัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ และบริเวณภาคใต้ตอนล่างในจังหวัด ตรัง สงขลา และปัตตานี ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากระยะห่างทางภูมิศาสตร์ที่มีความใกล้เคียง ทำให้มีการเคลื่อนย้ายพันธุกรรมจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่งได้ง่าย จนเกิดการผสมกันภายในเครือญาติ มีรายงานว่าสุกรพื้นเมืองจีนเป็นต้นกำเนิดของสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงในเขต Southeast Asia (Larson et al., 2010)

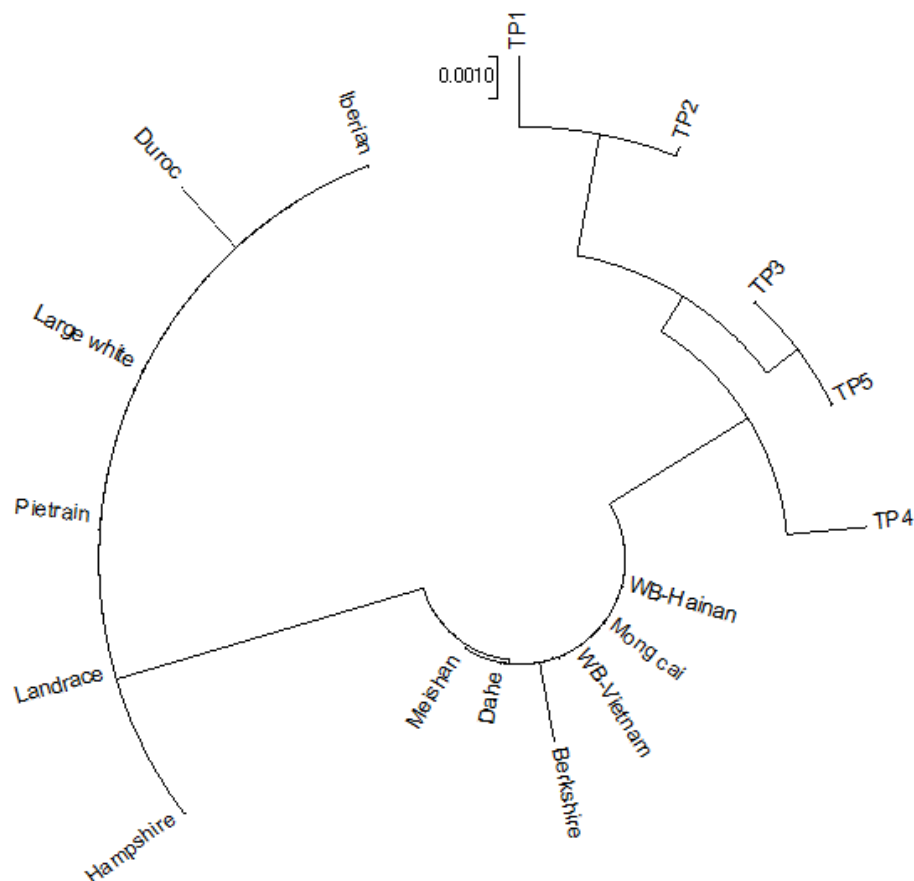


Figure 2 Phylogenetic tree of the COI region of porcine mtDNA sequence constructed by Neighbor-Joining (NJ) method using MEGA 7 software. Five haplotypes observed in Thai indigenous pig are indicated by circle. Also, European pig breeds and Asian pig breeds sequences were used for construction of the phylogenetic tree

โดยสุกรพื้นเมืองจีนที่เริ่มต้นนำมาเลี้ยงในประเทศไทย คือสุกรพันธุ์ไหหลำ (Hainan) ซึ่งเลี้ยงกันมากในแถบภาคใต้ของประเทศไทย จึงเป็นเหตุผลที่พบว่าสุกรพื้นเมืองภาคใต้มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับสุกรป่า (WB-Hainan) ที่พบบริเวณมณฑลไหหลำซึ่งอยู่ทางตอนใต้สุดของประเทศจีน และจาก Dendrogram พบว่าสุกรพันธุ์เบอร์กเชียร์ (Berkshire) ถูกจัดอยู่กลุ่มเดียวกับกันสุกรป่าเอเชียและสุกรพื้นเมืองไทย อาจเนื่องจากการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ของสุกรเบอร์กเชียร์มีการใช้สุกรพื้นเมืองจีนร่วมด้วย

สอดคล้องกับรายงานของ Yu et al. (2013) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรสายพันธุ์เอเชีย (สุกรพื้นเมืองจีน) และสุกรสายพันธุ์ยุโรป ด้วยการสร้าง phylogenetic tree จากข้อมูลความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์บนไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ สามารถจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของสุกรออกเป็นสองกลุ่ม คือ สุกรสายพันธุ์เอเชีย (สุกรพื้นเมืองจีน) และสุกรสายพันธุ์ยุโรป โดยสุกรพันธุ์เบอร์กชีเยร์จัดอยู่กลุ่มเดียวกับสุกรสายพันธุ์เอเชีย

4.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของสุกรพื้นเมืองไทยและสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม

4.2.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างทางพันธุกรรม

จากการตรวจสอบรูปแบบของดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDels จำนวน 14 ยีน (*POU1F1*, *FSHB*, *MUC13*, *DGAT2*, *KIT*, *FGFR2*, *VRTN*, *OCT4*, *MMP2*, *SPEF2*, *GPX-5*, *UCP2*, *INHA* และ *MX1*) ด้วยเทคนิค PCR ความถี่ของอัลลีลของประชากรสุกรทั้ง 12 กลุ่ม แสดงดัง Table 5 อย่างไรก็ตามเมื่อแบ่งตามหน้าที่ของยีนสามารถแบ่งกลุ่มยีนออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต (*POU1F1*, *DGAT2*, *FGFR2*, *VRTN* และ *UCP2*) กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ (*FSHB*, *SPEF2*, *OCT4*, *GPX-5* และ *INHA*) กลุ่มยีนเกี่ยวข้องกับการควบคุมกล้ามเนื้อ (*MUC13*, *MX1* และ *MMP2*) และยีนที่ควบคุมสีขน (*KIT*)

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (*POU1F1*, *DGAT2*, *FGFR2*, *VRTN* และ *UCP2*) พบความถี่ของยีน *POU1F1*, *DGAT2* และ *UCP2* ในอัลลีล L ในกลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสมสูงกว่าในกลุ่มสุกรพื้นเมืองไทย แต่จะเห็นว่าสุกรลูกผสมจะมีความผันแปรทางพันธุกรรมน้อยกว่ากลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้า ยีน *FGFR2* และ *VRTN* พบความถี่อัลลีล L ในกลุ่มสุกรพื้นเมืองไทยสูงกว่ากลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม แต่อย่างไรก็ตาม ยีน *FGFR2* เป็นยีนที่มีการ insertion ขนาด 48 bp ในบริเวณ intron ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 14 (SSC14) มีหน้าที่เกี่ยวข้องการพัฒนาของการเนื้อเยื่อของตัวอ่อนในระยะเอ็มบริโอ (Aldenhoven et al. 2016) ส่วนยีน *VRTN* เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 (SSC7) โดยเกิดการ insertion จำนวน 291 bp ส่งผลให้ประสิทธิภาพของลักษณะซากและคุณภาพเนื้อต่ำกว่าสุกรที่ไม่พบการ insertion ภายในยีน *VRTN* (Polasik et al., 2018) สอดคล้องกับลักษณะซากและคุณภาพเนื้อในสุกรพื้นเมืองไทยที่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสุกรสายพันธุ์ทางการค้า กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ ประกอบไปด้วยยีน *FSHB*, *SPEF2*, *OCT4*, *GPX-5* และ *INHA* ผลการศึกษา พบความถี่ยีน *FSHB*, *SPEF2*, *GPX-5* และ *INHA* ในอัลลีล L ในกลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสมสูงกว่าในกลุ่มสุกรพื้นเมืองไทย ส่วนยีน *OCT4* มีความถี่ของอัลลีลไม่แตกต่างกันในประชากรทั้ง 12 กลุ่ม โดยพบความถี่ของอัลลีล S สูงกว่าอัลลีล L กลุ่มยีนเกี่ยวข้องกับการควบคุมกล้ามเนื้อ (*MUC13*, *MX1* และ *MMP2*) พบความถี่ของยีนในกลุ่มนี้มีอัลลีล L ในกลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสมสูงกว่าในกลุ่มสุกรพื้นเมืองไทย

Table 5 Sample size and allele frequencies for 14 insertion-deletion polymorphisms (indels) of each population

Population ¹		NS	PNG	PT	SK	SN	ST	TR	KB	CB	DR	LR	LW
/Gene	Allele ²	N=46	N=16	N=2	N=15	N=29	N=14	N=12	N=10	N=30	N=20	N=30	N=30
<i>POU1F1</i>	L	0.283	0.333	0.750	0.133	0.569	0.536	0.375	0.250	0.783	0.475	0.781	0.569
	S	0.717	0.667	0.250	0.867	0.431	0.464	0.625	0.750	0.217	0.525	0.219	0.431
<i>DGAT2</i>	L	0.106	0.031	0.000	0.000	0.167	0.346	0.042	0.000	0.500	0.500	0.172	0.333
	S	0.894	0.969	1.000	1.000	0.833	0.654	0.958	1.000	0.500	0.500	0.828	0.667
<i>FGFR2</i>	L	0.426	0.438	1.000	0.467	0.867	1.000	0.667	0.500	0.172	0.053	0.594	0.069
	S	0.574	0.563	0.000	0.533	0.133	0.000	0.333	0.500	0.828	0.947	0.406	0.931
<i>VRNT</i>	L	0.543	0.600	1.000	0.577	0.241	0.250	0.583	0.750	0.000	0.225	0.232	0.167
	S	0.457	0.400	0.000	0.423	0.759	0.750	0.417	0.250	1.000	0.775	0.768	0.833
<i>UCP2</i>	L	0.630	0.600	0.000	0.357	0.577	0.375	0.583	0.500	0.000	0.667	0.783	0.929
	S	0.370	0.400	1.000	0.643	0.423	0.625	0.417	0.500	1.000	0.333	0.217	0.071
<i>FSHB</i>	L	0.620	0.594	1.000	0.767	0.857	0.615	0.583	0.250	0.016	0.000	0.274	0.017
	S	0.380	0.406	0.000	0.233	0.143	0.385	0.417	0.750	0.984	1.000	0.726	0.983
<i>SPFE2</i>	L	0.511	0.625	1.000	0.533	0.667	0.536	0.667	0.500	0.317	0.200	0.500	0.380
	S	0.489	0.375	0.000	0.467	0.333	0.464	0.333	0.500	0.683	0.800	0.500	0.620
<i>OCT4</i>	L	0.181	0.063	0.000	0.179	0.103	0.036	0.083	0.500	0.177	0.325	0.217	0.250
	S	0.819	0.938	1.000	0.821	0.897	0.964	0.917	0.500	0.823	0.675	0.783	0.750
<i>GPX-5</i>	L	0.883	1.000	1.000	0.967	0.967	0.964	0.958	1.000	0.484	0.600	0.734	0.633
	S	0.117	0.000	0.000	0.033	0.033	0.036	0.042	0.000	0.516	0.400	0.266	0.367
<i>INHA</i>	L	0.862	1.000	1.000	1.000	0.638	0.464	1.000	1.000	0.371	0.500	0.790	0.552
	S	0.138	0.000	0.000	0.000	0.362	0.536	0.000	0.000	0.629	0.500	0.210	0.448
<i>MUC13</i>	L	0.053	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.661	0.350	0.094	0.450
	S	0.947	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.339	0.650	0.906	0.550
<i>Mx1</i>	L	0.436	0.344	0.500	0.367	0.569	0.500	0.292	0.500	0.935	1.000	0.710	0.567
	S	0.564	0.656	0.500	0.633	0.431	0.500	0.708	0.500	0.065	0.000	0.290	0.433
<i>MMP2</i>	L	0.102	0.033	0.000	0.036	0.019	0.036	0.000	0.000	0.500	0.417	0.367	0.600
	S	0.898	0.967	1.000	0.964	0.981	0.964	1.000	1.000	0.500	0.583	0.633	0.400
<i>KIT</i>	L	0.936	0.906	1.000	0.767	1.000	0.929	0.875	0.953	1.000	1.000	1.000	1.000
	S	0.064	0.094	0.000	0.233	0.000	0.071	0.125	0.047	0.000	0.000	0.000	0.000

¹ DR = Duroc, LW = Large White, LR = Landrace, CB =Crossbred, SN =Sakorn Nakorn, NS = Nakorn Sri thammarat, SK = Songkhla, ST = Surat Thani, KB =Krabi, PT = Pattani, TR = Trang, PNG = Phang Nga

² L = Allele Frequency in Insertion

S = Allele Frequency in Deletion

และยีน *KIT* เป็นยีนที่ควบคุมสีขนพบความถี่อัลลีล L และ S ในกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ ขณะที่ ไม่พบความถี่ของอัลลีล S ในสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและ สุกรลูกผสม ทั้งนี้เนื่องจากตำแหน่งของยีนดังกล่าวควบคุมการเกิดขนสีขาวที่พบในบริเวณช่วง ท้องของสุกร จึงไม่พบอัลลีลดังกล่าวในสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีสีดำตลอดทั้ง ลำตัวและสุกรพันธุ์อื่นๆ จากการตรวจสอบความถี่อัลลีลของดีเอ็นเอเครื่องหมายจำนวน 14 indels (*POU1F1*, *FSHB*, *MUC13*, *DGAT2*, *KIT*, *FGFR2*, *VRTN*, *OCT4*, *MMP2*, *SPFE2*, *GPX-5*, *UCP2*, *INHA* และ *MX1*) ในสุกรพื้นเมืองไทย ส่วนใหญ่จะพบความถี่ของอัลลีล S ซึ่งเป็นอัลลีลที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์และระบบภูมิคุ้มกัน

Table 6 Observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), variance of allele frequencies within accessions (F_{is}), inbreeding coefficient within an individual total diversity (F_{it}), variance of allele frequencies among accessions (F_{st}) by locus, averaged among all the breeds

Locus ¹	H_o	H_e	F_{is}	F_{it}	F_{st}
<i>POU1F1</i>	0.323	0.413	0.217	0.353	0.173
<i>DGAT2</i>	0.366	0.233	-0.575	-0.224	0.223
<i>FGFR2</i>	0.000	0.304	1.000	1.000	0.391
<i>VRNT</i>	0.349	0.337	-0.033	0.289	0.312
<i>UCP2</i>	0.198	0.193	-0.023	0.228	0.246
<i>FSHB</i>	0.201	0.280	0.281	0.596	0.438
<i>SPFE2</i>	0.275	0.423	0.350	0.447	0.149
<i>OCT4</i>	0.321	0.255	-0.258	-0.105	0.122
<i>GPX-5</i>	0.428	0.355	-0.203	0.145	0.289
<i>INHA</i>	0.191	0.249	0.232	0.468	0.307
<i>MUC13</i>	0.101	0.139	0.274	0.565	0.401
<i>Mx1</i>	0.604	0.403	-0.499	-0.226	0.182
<i>MMP2</i>	0.266	0.196	-0.355	0.083	0.323
<i>KIT</i>	0.133	0.114	-0.173	-0.072	0.086
All loci	0.268	0.278	0.017	0.253	0.260

¹ *POU1F1*= POU Class 1 Homeobox 1; *DGAT2*= Diacylglycerol O-Acyltransferase 2; *FGFR2*= Fibroblast growth factor receptor 2; *VRNT*= Vertnin; *UCP2*= Uncoupling Protein 2; *FSHB*= Follitropin subunit beta; *SPFE2*= sperm flagella 2; *OCT4*= Octamer-binding transcription factor-4; *GPX-5*= Glutathione peroxidase 5; *INHA*= Inhibin Subunit Alpha; *MUC13*= Mucin 13; *Mx1*= MX Dynamin Like GTPase 1; *MMP2*= Matrix Metalloproteinase 2; *KIT*= V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog

Table 7 Expected Heterozygosity (H_e), observed heterozygosity (H_o) and Wright's fixation indices (F) in all population

Populations	H_o	H_e	F
Thai indigenous pigs			
Surat Thani (ST)	0.251	0.293	0.098
Nakorn Sri thammarat (NS)	0.223	0.333	0.265
Phang Nga (PNG)	0.207	0.265	0.138
Krabi (KB)	0.307	0.259	-0.183
Trang (TR)	0.226	0.269	0.104
Songkhla (SK)	0.223	0.270	0.126
Pattani (PT)	0.107	0.063	-0.667
Sakorn Nakorn (SN)	0.228	0.290	0.178
Commercial pig breeds			
Large White (LW)	0.384	0.341	-0.003
Landrace (LR)	0.299	0.350	0.117
Duroc (DR)	0.438	0.327	-0.233
Crossbred (CB)	0.325	0.280	-0.091

ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) ของ ดีเอ็นเอเครื่องหมาย Indels จำนวน 14 ยีน แสดงดัง Table 6 มีค่าอยู่ในช่วง 0.101-0.643 และ 0.0114-0.423 ตามลำดับ ยีน *Mx1* มีค่า H_o สูงสุดเท่ากับ 0.643 และ ยีน *SPFE2* มีค่า H_e สูงสุดเท่ากับ 0.423 ค่า F_{is} มีค่าอยู่ในช่วง -0.575 (*DGAT2*) ถึง 0.350 (*SPFE2*) มีค่าเฉลี่ย F_{is} เท่ากับ 0.017 ค่า F_{st} มีค่าอยู่ในช่วง 0.122 (*OCT4*) ถึง 0.438 (*FSHB*) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.260 หมายความว่าเกิดความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากร คิดเป็น 26.0% ที่เหลือ 74.0% เป็น ความแตกต่างระดับรายตัวจาก 259 ตัวในกลุ่มสุกรทั้ง 12 กลุ่มการพิจารณาค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับพันธุศาสตร์ประชากรในการศึกษาครั้งนี้ แสดงดัง Table 7

ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) สูงสุดพบ ในกลุ่มสุกรพันธุ์ดอร์ค มีค่า 0.438 และสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ มีค่า 0.350 ขณะที่ ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) ต่ำสุดพบในสุกรพื้นเมืองภาคใต้ในพื้นที่จังหวัดปัตตานี มีค่า 0.107 และ 0.063 จะเห็นได้ว่า ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) ในกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ มีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีค่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) สูงกว่ากลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ความ

แตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรด้วยการคำนวณค่า Fixation index จากข้อมูล H_e และ H_o พบว่ามีค่าค่อนข้างต่ำมีค่าอยู่ในช่วง -0.003-0.265 โดยทั่วไปค่า Fixation index มีค่า -1 ถึง +1 เป็นผลมาจากรูปแบบจีโนไทป์แบบ Heterozygous มีอยู่น้อย อาจเนื่องจากการผสมพันธุ์แบบเลือดชิด หรือกลุ่มประชากรที่มีขนาดเล็กและผ่านการคัดเลือก จากการศึกษาของ Vali et al. (2008) ได้รายงานไว้ว่าศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรตามธรรมชาติ โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDel และ Microsatellite ให้ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีรายตัวที่ใกล้เคียงกัน ส่วนความหลากหลายของดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDels ประชากรสุกรทั้งหมดมีค่า Percentage Polymorphic loci เฉลี่ย $75.60 \pm 4.93 \%$

4.2.2 โครงสร้างประชากรและการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม

จากการวิเคราะห์โครงสร้างประชากรของสุกรพื้นเมืองภาคใต้ สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม โดยใช้โปรแกรม Structure หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์การจัดกลุ่มประชากรด้วยโปรแกรม Harvester ผลการทดลองแสดงดัง Figure 3 ที่ค่า $K=2$ มีค่า DeltaK สูงสุด ทำให้แบ่งประชากรสุกรออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสมทางการค้า (สีเขียว) และกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ (สีแดง) โดยจะเห็นได้ว่าสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีพันธุกรรมที่ผสมกัน (admixture) กับสุกรสายพันธุ์แท้ต่างประเทศและสุกรลูกผสม ทั้งนี้เนื่องจาก สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นสุกรที่อยู่กลุ่มปิด มีการคัดเลือกภายในประชากร ทำให้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับสุกรพื้นเมืองภาคใต้ ซึ่งเป็นสุกรที่เลี้ยงในกลุ่มเปิด ไม่มีการคัดเลือกและมีการผสมพันธุ์แบบสุ่ม อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบในแถบ Bar ทั้งสีแดงและสีเขียว

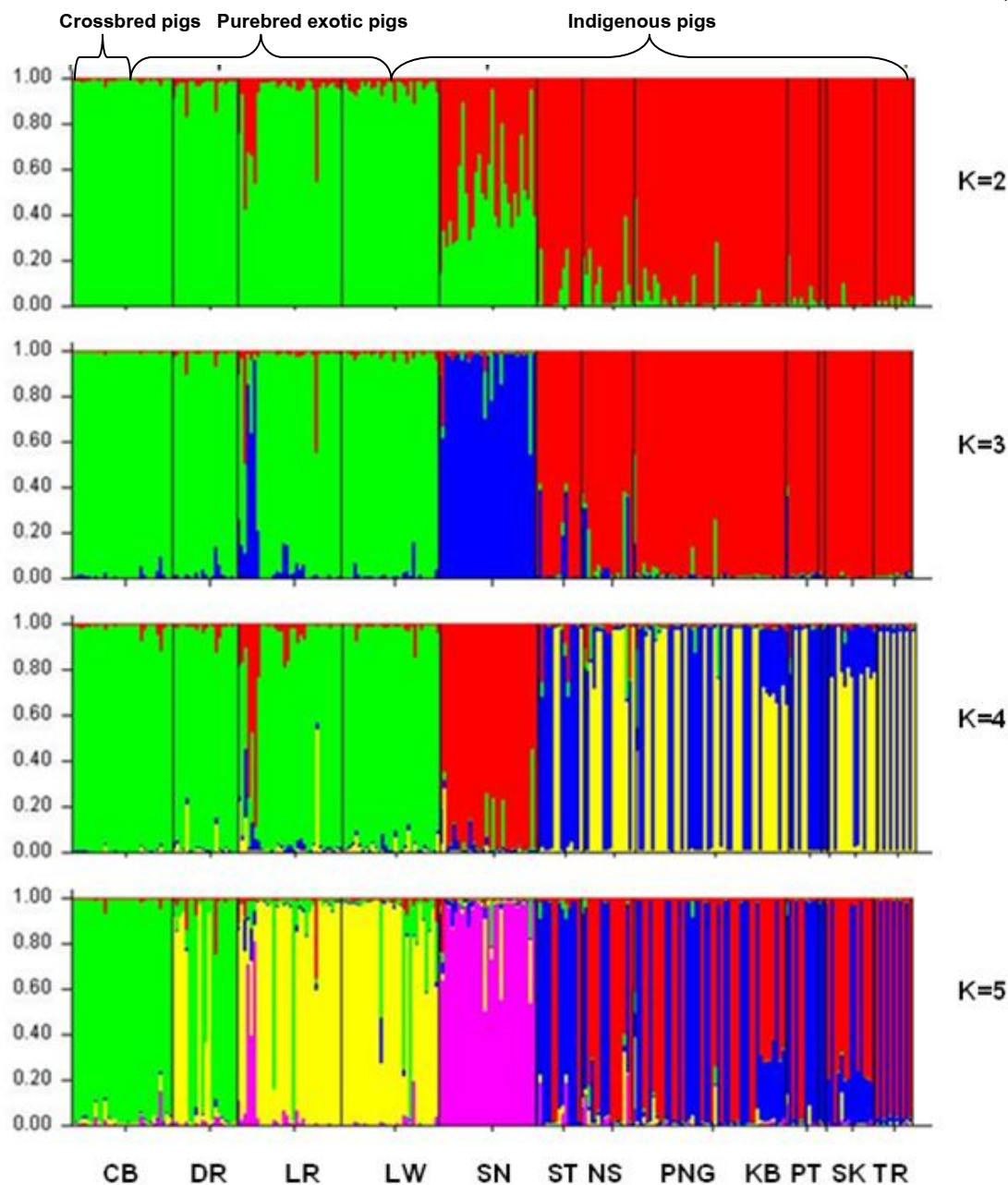


Figure 3 Clustering analysis by structure for the full loci data set assuming $K=2-5$ ¹.

¹DR = Duroc, LW = Large White, LR = Landrace, CB =Crossbred, SN =Sakorn Nakorn, NS = Nakorn Sri thammarat, SK = Songkhla, ST = Surat Thani, KB =Krabi, PT = Pattani, TR = Trang, PNG = Phang Nga

จากการสร้าง Phylogenetic tree โดยใช้ข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรมจากวิธีของ Nei's นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี Neighbor-joining (NJ) บนโปรแกรม POPTREE2 จะเห็นได้ว่าประชากรสุกรทั้งหมด สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม (LR LW DR และ CB) สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (SN) และกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ (NS SK ST KB PT TR และ PNG) (Figure 4) แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่า สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ แยกออกจากกันอย่างชัดเจน ทั้งนี้ประชากรสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีลักษณะลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างแตกต่างกับสุกร

พื้นเมืองภาคใต้ โดยสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือสุกรพันธุ์ราดหรือกระโดน มีลักษณะสีดำ ลำตัวสั้น น้ำหนักโตเต็มที่ประมาณ 70-80 กิโลกรัม ขณะที่สุกรพื้นเมืองภาคใต้ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ หากแบ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้ออกเป็นสามกลุ่ม โดยส่วนใหญ่เป็นสุกรพันธุ์ไหล่ดำ พบลำตัวมีสีดำปนขาว ส่วนท้องและเท้ามีสีขาว หลังแอ่นและท้องยาน มีขนาดตัวเมื่อโตเต็มที่ 100-120 กิโลกรัม กลุ่มสุกรที่มีลำตัวสีดำอมเทาและมีจุดสีดำ และกลุ่มสุกรที่ลำตัวสีดำล้วน ส่วนท้องมีลักษณะยานแต่มีขนาดน้ำหนักตัวน้อยกว่า อาจทำให้มีความผันแปรทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน

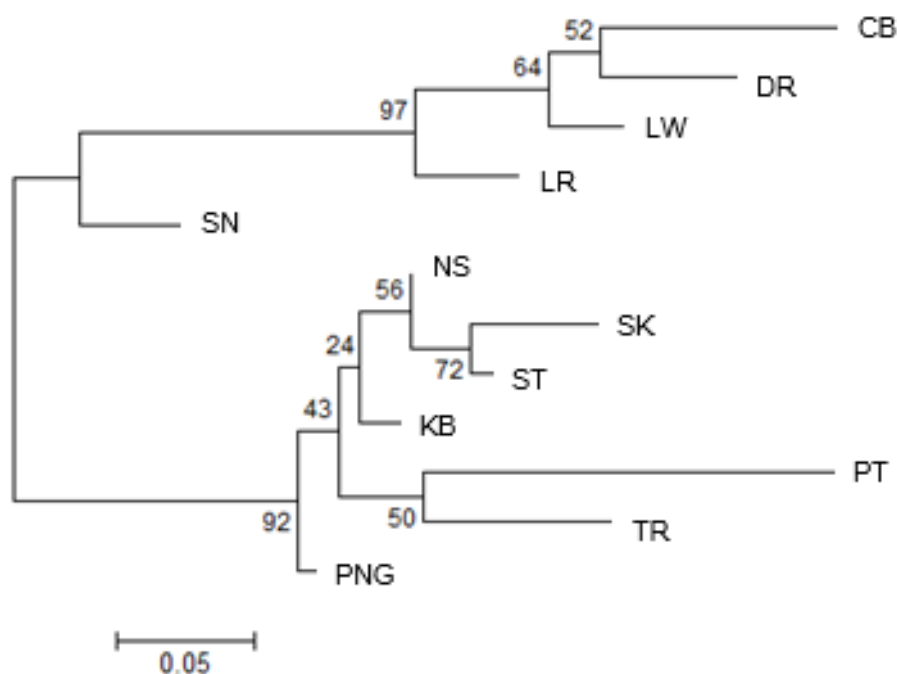


Figure 4 The Bootstrap neighbor-joining tree based on Nei's genetic distance ¹. ¹DR = Duroc, LW = Large White, LR = Landrace, CB =Crossbreed, SN =Sakorn Nakorn, NS = Nakorn Sri thammarat, SK = Songkhla, ST = Surat Thani, KB =Krabi, PT = Pattani, TR = Trang, PNG = Phang Nga.

ในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองภาคใต้ สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม โดยใช้วิธี principal component factor scores (PCA) ซึ่งเป็นการใช้ข้อมูลในรูปเมทริกซ์ของสหสัมพันธ์ความถี่อัลลีลของดีเอ็นเอเครื่องหมาย InDels ทั้ง 14 ยีน โดยแกน Coord1 (53.89%) และ แกน Coord2 (16.78%) เป็นตัวแทนความผันแปรของข้อมูลทั้งหมด เมื่อนำมาสร้างแผนภาพกราฟการกระจายตัวของข้อมูลทั้งหมด (Figure 5) พบว่าตัวอย่างประชากรสุกรสายพันธุ์ต่างๆสามารถแบ่งสุกรออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสุกรพื้นเมืองภาคใต้ในจังหวัดปัตตานี (PT) สกลนคร (SN) และ สุ

ราษฎร์ธานี (ST) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สงขลา (SK) ตรัง (TR) กระบี่ (KB) พังงา (PNG) และ นครศรีธรรมราช (NS) กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้า ประกอบด้วย สุกรดуроค(DR) สุกรลาร์จไวท์(LW) และสุกรแลนด์เรซ (LR) และกลุ่มที่ 4 คือ สุกรลูกผสม (CB) จะเห็นได้ว่าสุกรพื้นเมืองไทยแยกออกจากกลุ่มสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสมอย่างชัดเจน โดยสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือแยกออกจากกลุ่มสุกรพื้นเมืองภาคใต้ที่เก็บตัวอย่างจาก สงขลา (SK) ตรัง (TR) กระบี่ (KB) พังงา (PNG) และนครศรีธรรมราช (NS) สอดคล้องกับการทำ Phylogenetic tree

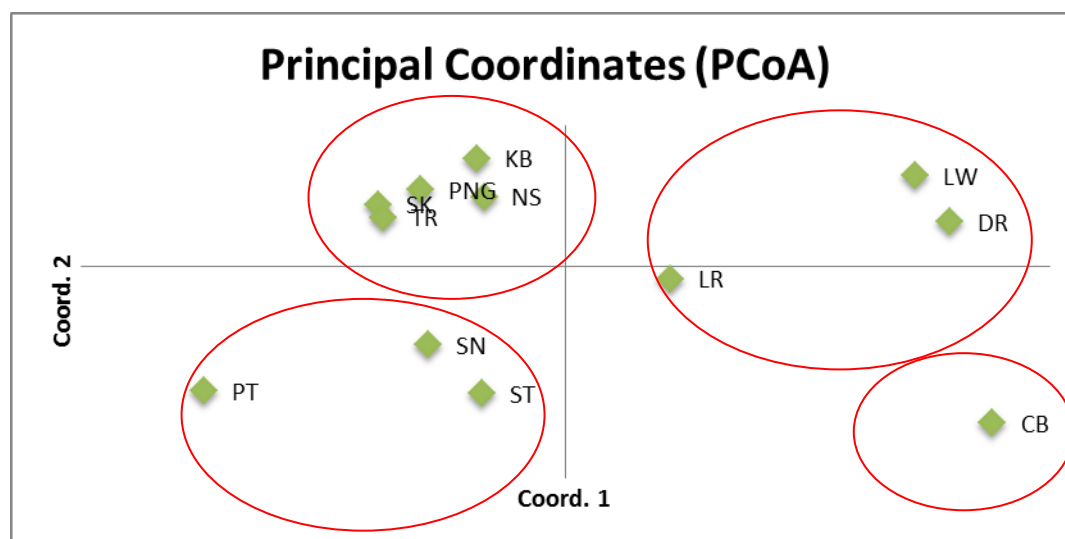


Figure 5 Principal component analysis results¹. ¹ DR = Duroc, LW = Large White, LR = Landrace, CB =Crossbred, SN =Sakorn Nakorn, NS = Nakorn Sri thammarat, SK = Songkhla, ST = Surat Thani, KB =Krabi, PT = Pattani, TR = Trang, PNG = Phang Nga.

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้ ดีเอ็นบาร์โค้ดดิ้ง พบรูปแบบ Haplotype ที่จำเพาะในสุกรพื้นเมืองไทย จำนวน 5 Haplotype ซึ่งอาจนำไปใช้ในการพัฒนาและอนุรักษ์สุกรพื้นเมืองไทยได้ ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย Phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่าสุกรพื้นเมืองในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงและจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน จากการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมด้วยดีเอ็นเครื่องหมาย InDels จำนวน 14 ยีน สามารถสรุปได้ว่า สุกรพื้นเมืองไทยมีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีปานกลาง และจากการวิเคราะห์โครงสร้างของประชากรด้วยการจัดกลุ่มพันธุกรรมโดยโปรแกรม Structure วิธี PCA plot และสร้าง Phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่ากลุ่มสุกรพื้นเมืองในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยไม่มีความ

แตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งอาจมีต้นกำเนิดมาจากที่เดียวกัน โดยสุกรพื้นเมืองภาคใต้มีความใกล้เคียงกับสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างชัดเจนกับสุกรพันธุ์แท้ทางการค้าและสุกรลูกผสม

อย่างไรก็ตาม การทราบข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองภาคใต้จะช่วยให้วางแผนพัฒนาปรับปรุงพันธุ์และอนุรักษ์สุกรพื้นเมืองภาคใต้ การตั้งเป้าหมายในการปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างเหมาะสม โดยอาจวางแผนการผสมพันธุ์โดยใช้สุกรพื้นเมืองภาคใต้เป็นสายแม่และผสมข้ามพันธุ์กับสุกรสายพันธุ์ยุโรป

เอกสารอ้างอิง

- นิชนันท์ ชูเกิด พงษ์ชาญ ณ ลำปาง และสุรินทร์ บุญอนันตสร. 2551. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนยีน Cytochrome b แก่นเกษตร 36:247-253
- อภิชาติ พันชูกลาง และรัฐจวน อิศรรักษ์. 2558. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาจากยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome b. รายงานการวิจัยจากงบประมาณกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
- Aldenhoven, J., A. Sptter and O. Dist. 2007. An insertion/deletion in the porcine *FGFR2* gene. J. Anim. Breed. Genet. 124:39-41
- Alves, E., Al. Fernández, A. Fernández-Rodríguez, D. Pérez-Montarelo, R. Benitez, C. Ovilo, C. Rodríguez and L. Silió. 2009. Identification of mitochondrial markers for genetic traceability of European wild boars and Iberian and Duroc pigs. Animal 3: 1216-1223
- Chaiwatanasin, W., S. Chantsavang, S. Chomchai, N. Sookmanee and S. Tabchareon. 2002. Genetic diversity of native pig in Thailand using microsatellite analysis. Kasetsart J: Nat Sci. 36: 133-137
- Charoensook, R., B. Brenig, K. Gatphayak, S. Taesoongnern and C. Knorr. 2009. Genetic identity of native pig breeds in northern Thailand evidenced by microsatellite markers", Proceedings of International Conference on Research for Development in Agriculture and Forestry, Food and Natural Resource Management. Hamburg. Germany.p. 281.
- Chaweewan, K., M. Duangjinda, and P. Klomtong. 2014. Genetic diversity of Thai indigenous pigs using microsatellite markers. Proceedings of the 16th AAAP Animal Science Congress Vol. II : 212-215.
- Chen, R. S. Yu, F. Ren, X. Y. Lv and C. Y. Pan. 2007 Detection of one large insertion/deletion (indel) and two novel SNPs within the *SPEF2* gene and their associations with male piglet reproduction traits. Arch. Anim. Breed., 59:275-283

- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 32: 1792–1797
- Ferri, E., M. Barbuto, O. Bain, A. Galimberti, S. Uni, R. Guerrero, H. Ferté, C. Bandi, C. Martin and M. Casiraghi. 2009. Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda). *Front. Zool.* 6(1): 1–12
- Hebert, P. D., A. Cywinska, S. L. Ball and J. R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci.* 270: 313–321
- Hajibabaei, M., D. H. Janzen, J. M. Burns, W. Hallwachs and P. D.N. Hebert. 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:968–971
- Klomtong, P., K. Chaweewan, Y. Phasuk and M. Duangjinda. 2015. *MC1R*, *KIT*, *IGF2*, and *NR6A1* as markers for genetic differentiation in Thai native, wild boars, and Duroc and Chinese Meishan pigs. *GMR*, 14: 12723–12732
- Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33: 1870–1874
- Huang, H., W. Zhao, Z. Tang, S. Yang, Z. Wu, S. Zhao, W.Cui, Y. Mu, M. Ch, and K. Li. 2009. Characterization of porcine MMP-2 and its association with immune traits. *Gene* 43:63–71
- Larson, G., R.R. Liu, X. Zhao, J. Yuan, D. Fuller, et al. 2010. Patterns of East Asian pig domestication, migration, and turnover revealed by modern and ancient DNA. *Proc. Natl Acad. Sci USA.* 107:7686–7691
- Li, W., S. Chen , H. Li , Z. Liu , Y. Zhao , L. Chen , X. Zhou and C. Li. 2016. A new insertion/deletion fragment polymorphism of inhibin- α gene associated with follicular cysts in Large White sows. *J Vet Med Sci.* 78(3):473–6
- Lin, C.S., Y.L. Sun, C.Y. Liu, P.C. Yang, L.C. Chang, I.C. Cheng, S. J. Mao and M.C. Huang. 1999. Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. *Gene.* 236:107–114
- Mackowski, M., M. Switonski, J. Mackowska and W. Perz. 2004. Polymorphism of the GPX-5 gene and characteristics of boar semen. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 47:165–171

- Maw, A.A., T. S., Riztyan, K. Kawabe, Y. Kawamoto and S. Okamoto. 2012. Genetic diversity of Myanmar and Indonesia native chickens together with two jungle fowl species by using 102 Indels polymorphisms. *Asian Australas J Anim Sci.* 25:927–934
- Mills, R.E., C.T. Luttig, C.E. Larkins, A. Beauchamp, C. Tsui, and W.S. Pittard. 2006. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. *Genome Res* 16(9):1182–1190
- Nakai, S. 2008. Decision making in the use of diverse combinations of agricultural products and natural plants in pig feed: A case study of the native pig smallholder in northern Thailand. *Trop. Anim. Health Prod.* 40: 201-208
- Orville, L. B, J. M. D. Dominguez and F. F Peñalba. 2013. DNA barcoding of domestic swine breeds and crossbreeds (*sus scrofa*) in the philippines. *Philipp J Vet Anim Sci.* 39: 31-42
- Peakall, R. and P. E. Smouse. 2012. GenAEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28: 2537–2539
- Polasik, D., M. Tyra , M. Szyndler-Nedza, A. Korpai, K. Wozniak-Mech and A. Terman. 2018. Relationship between VRTN gene polymorphism and growth, slaughter and meat quality traits in three polish pig breeds. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(5):540-549
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945– 959
- Ren, F., S. Yua, R. Chena, X. Lvb and C. Pana. 2017. Identification of a novel 12-bp insertion/deletion (indel) of PS-related Oct4 gene and its association with reproductive traits in male piglets. *Animal Reproduction Science* 178:55–60
- Ren, F., S. Yu, X. Zhang, X. Lv, X. Sun and C. Pan. 2017. Relationship between the insertion/deletion variants of *POU1F1*, *FSH β* , and *MUC13* and testis measurement traits in male piglets. *The J. Anim. Plant Sci.* 27(3)
- Sumantri, C., T. Morozumi, and D. N. Hamamshima. 2001. Deteksi delesi dan mutasi Pada gen *MX1* (Gen resisten terhadap virus influenza) Pada Babi Dengan PCR-RFLP NAR I Restriksi. *Jurnal ilmu ternak dan veteriner* vol. 6:1
- Song, C.-Y., B. Gao, S.-H. Teng, X.-Y. Wang, F. Xie, G.-h. Chen, Z.-Y. Wang, R.-B. Jing and J.-D. Mao. 2007. Polymorphisms in intron 1 of the porcine *POU1F1* gene. *J Appl Genet* 48(4): 371–374

- Takezaki, N.; Nei, M. and K. Tamura. 2009. POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows interface. *Mol. Biol. Evol.* 27:747–752
- Tran, T.N.T., P. Ni, J. Chen, T.T. Le, K. Steve, J. Han, H. Wang and S. Zhao. 2016. The complete mitochondrial genome of Mong Cai pig (*Sus scrofa*) in Vietnam. *Mitochondrial DNA Part B Resour.* 1 (1): 226-227
- Vařli, U., A. Einarsson, L. Waits and H. Ellegren. 2008. To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations? *Molecular Ecology*, 17, 3808–3817
- Yang, J., J. Wang, J. Kijas, B. Liu, H. Han, M. Yu, H. Yang, S. Zhao and K. Li. 2002. Genetic diversity present within the near-complete mtDNA genome of 17 breeds of indigenous Chinese pigs. *J. Hered.* 94: 381-385
- Yanhua, L., H. Li, X. Zhao, N. Li and C. Wu. 2007. UCP2 and 3 Deletion Screening and Distribution in 15 Pig Breeds. *Biochem Genet.* 45:103-111
- Wu, G.S., Y.G. Yao, K. X. Qu, Z.L. Ding, H. Li, M.G. Palanichamy, Z.Y. Duan, N. Li, Y.S. Chen and Y. P. Zhang. 2013. Population phylogenomic analysis of mitochondrial DNA in wild boars and domestic pigs revealed multiple domestication events in East Asia. *Genome Biol.* 8 (11)
- Wang, F. H. Qiu, Q. Zhang, Z. Peng and B. Liu. 2012. Association of two porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) receptor genes, CD163 and SN with immune traits. *Mol Biol Rep.* 39:3971–3976
- Zang, L., Y. Wang, B. Sunb, X. Zhang, C. Yang, L. Kang, Z. Zhao and Y. Jiang. 2016. Identification of a 13 bp indel polymorphism in the 3'-UTR of *DGAT2* gene associated with backfat thickness and lean percentage in pigs. *Gene* 576:729–733

ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ
หนังสือ การจดสิทธิบัตร)
บทความในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
เรื่อง polymorphism of 12-bp insertion/deletion (indel) of ips-related *OCT4* gene
in southern Thai indigenous pigs. The 11th IMT-GT UNINET Conference 2018 –
Bioscience for A Sustainable Future Penang, Malaysia, December 11-12, 2018